

Dactylorhiza incarnata (L.) Soó w regionie gdańskim – zmienność morfologiczna i genetyczna populacji oraz stan zachowania stanowisk

Dactylorhiza incarnata (L.) Soó in the Gdańsk region – morphological and genetic variation of populations and the present state of the localities

JULITA MINASIEWICZ, PIOTR TUKAŁŁO, KATARZYNA TRZEPANOWSKA

*J. Minasiewicz, P. Tukałło, K. Trzeganowska, Katedra Taksonomii Roślin i Ochrony Przyrody,
Uniwersytet Gdański, Al. Legionów 9, 80-441 Gdańsk,
e-mail: biojm@univ.gda.pl*

ABSTRACT: The 56 localities of *Dactylorhiza incarnata* in the Gdańsk area have been listed, based on the literature from years 1911–1999. The specimens of this species were found only on 8 of these localities during the field works in 2001. The main reasons for declining its localities are ground drainage connected with land use and urbanization. *Dactylorhiza incarnata* is an endangered species (EN category) in Gdańsk region. Seven populations have been examined for allozyme variation at 13 enzyme loci as well as for morphological variation. Allozyme diversity of studied populations is very low. Neither genetic nor morphological variation constitutes the basis for ecotype distinguishing in the studied area. Two out of eight existing population located in Sulęczyno and Pryśniewo are large and well preserved. These localities should be protected by law.

KEY WORDS: *Dactylorhiza incarnata*, localities, allozyme variation, morphological variation, Gdańsk region, conservation

Wstęp

W ciągu ostatniego pięćdziesięciolecia procesy wymierania rodzimych gatunków roślin naczyniowych uległy znacznemu nasileniu, głównie wskutek niekorzystnego wpływu człowieka na naturalne siedliska (Michalik 1976; Żukowski

MINASIEWICZ J., TUKAŁŁO P., TRZEPANOWSKA K. 2004. *Dactylorhiza incarnata* (L.) Soó in the Gdańsk region – morphological and genetic variation of populations and the present state of the localities. – Acta Bot. Cassub. 4: 139–160.

1976; Szlachetko 1987). Aby móc im przeciwdziałać, konieczne jest określenie istniejących zasobów rzadkich gatunków oraz stopnia ich zagrożenia i opracowania na tej podstawie skutecznych strategii ochrony.

Badania z zakresu genetyki populacji wykazały, jak ogromne znaczenie dla ochrony zagrożonych gatunków ma zachowanie ich różnorodności genetycznej. Poznanie zmienności genetycznej pozwala na wybór odpowiednich populacji do ochrony, jeśli nie można chronić wszystkich, dobór osobników do ochrony *ex situ* czy odpowiedniego materiału do banków genów. Wiedza ta jest współcześnie fundamentem planowania długoterminowej ochrony gatunków rzadkich i zagrożonych (Falk 1991).

Szczególnie zagrożoną grupą we florze Polski są storczyki. Wynika to z ich specyficznej biologii, która powoduje, iż są one wyjątkowo wrażliwe na zmiany warunków siedliskowych. Wiele gatunków o atrakcyjnych kwiatach jest również zagrożonych bezpośrednim niszczeniem. Od 1983 roku wszystkie gatunki należące do rzędu Orchidales podlegają ochronie prawnej (Rozporządzenie Ministra Leśnictwa i Przemysłu Drzewnego z dnia 20.05.1983 – Dz. U. nr 27, poz. 134). Niemniej przez długi czas wyjątek stanowił szereg taksonów z rodzaju *Dactylorhiza*, które zostały określone w ustawie jako „najpospolitsze, czerwonokwitnące gatunki łąkowe” (Rozporządzenie Ministra Oświaty z dnia 29 sierpnia 1946 r. w sprawie wprowadzenia gatunkowej ochrony roślin – Dz. U. nr 70, poz. 384). Do tej grupy zaliczały się między innymi *Dactylorhiza incarnata* (L.) Soó, *D. majalis* (Rchb.) P. F. Hunt & Summerh i *D. maculata* (L.) Soó. Kilka lat temu zjawisko zanikania stanowisk jednego z tych storczyków – *D. incarnata* – zostało dostrzeżone w Wielkopolsce i na Pomorzu Zachodnim (Żukowski, Jackowiak 1995) oraz na Górnym Śląsku (Parusel i in. 1996) i w Polsce Środkowej (Jakubowska-Gabara, Kucharski 1999), a także w województwie opolskim (Nowak, Spałek 2002). Biorąc pod uwagę intensywność procesów degradacji siedlisk tego gatunku – nawapiennych torfowisk i podmokłych łąk – spodziewać się można wyraźnego spadku liczby jego stanowisk również w innych regionach Polski. Stoplamek krwisty (*D. incarnata*) ma węższą skalę ekologiczną niż stoplamek szerokolistny (*D. majalis*), jest też znacznie bardziej wrażliwy na zmiany warunków siedliskowych. Istnieje niebezpieczeństwo, że zanikanie populacji *D. incarnata* może być maskowane przez nadal dosyć częste występowanie *D. majalis*, jako że prawidłowe oznaczanie gatunków z rodzaju *Dactylorhiza* jest problemem nawet dla wielu botaników.

Dane dotyczące liczby i stanu zachowania stanowisk stoplamek krwistego w regionie gdańskim nie były aktualizowane od wielu lat. Ostatnia szczegółowa praca poświęcona podobnym zagadnieniom jest datowana na rok 1987 i dotyczy jedynie wschodniej części Pobrzeża Kaszubskiego (Szlachetko 1987).

Niniejsza praca miała na celu:

1. inwentaryzację stanowisk *Dactylorhiza incarnata* w regionie gdańskim;
2. ocenę stanu ich zachowania i źródeł zagrożenia;
3. określenie zmienności morfologicznej i genetycznej istniejących populacji;
4. zaproponowanie działań zmierzających do zachowania istniejących stanowisk badanego gatunku w regionie gdańskim.

1. Materiały i metody

1.1. Rozmieszczenie

Badania przeprowadzono w regionie gdańskim, który zdefiniowano jako tereny dawnego województwa gdańskiego w granicach z 1975 roku z wyłączeniem Żuław Wiślanych i Doliny Dolnej Wisły (ryc. 1).

Listę stanowisk *D. incarnata* zestawiono na podstawie literatury z okresu 1911–1999. Posłużono się również pozycjami niepublikowanymi, jak prace magisterskie, doktorskie i manuskrypty. Łącznie zestawiono listę 56 stanowisk.

1.2. Zasoby i stan zachowania

Badania terenowe przeprowadzono w sezonie wegetacyjnym 2001. Każde odzyskane w terenie stanowisko z zestawionej listy, sklasyfikowano do jednej z niżej wymienionych kategorii:

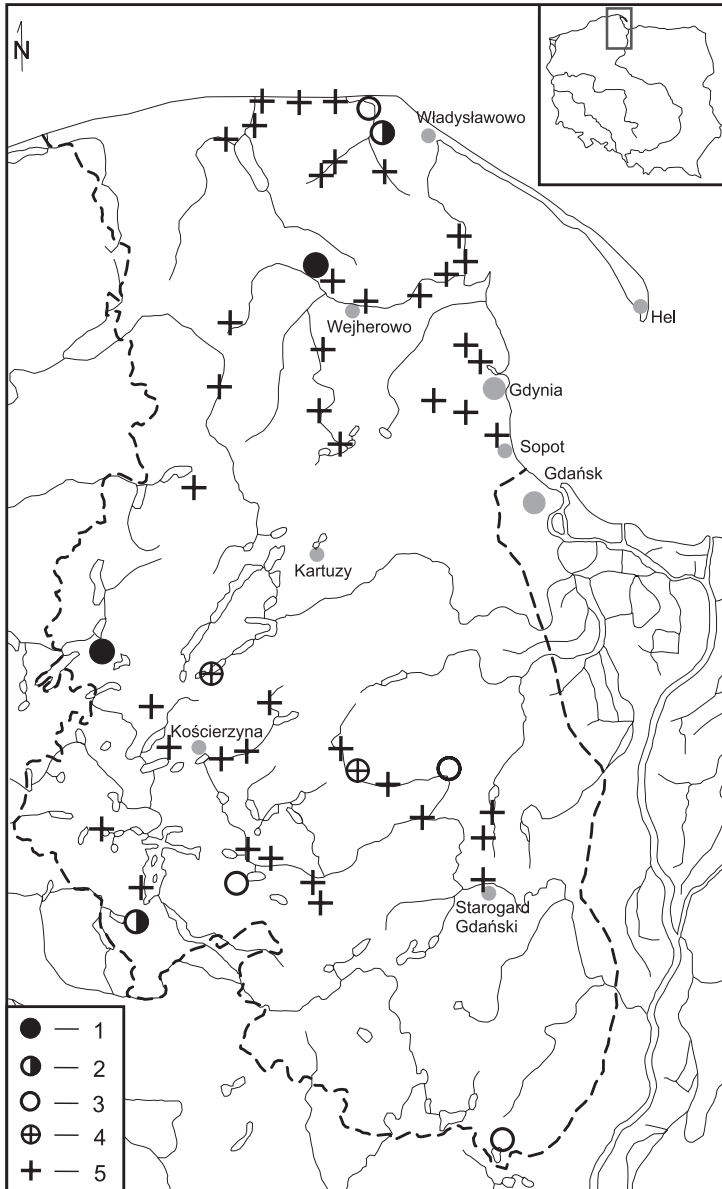
- istniejące (odnalezione w trakcie prac terenowych w 2001 r.);
- niepotwierdzone (nie stwierdzono obecności *D. incarnata* mimo braku widocznych oznak degradacji siedliska);
- nieistniejące (nie stwierdzono obecności *D. incarnata* z powodu degradacji siedliska).

Na istniejących stanowiskach zliczono osobniki badanego gatunku i na tej podstawie zaszeregowano populacje do jednej z trzech umownych klas obfitości: I – poniżej 50 osobników, II – od 50 do 100 osobników, III – powyżej 100 osobników. Wykonano ponadto pomiary odczynu gleby w trzech miejscach w obrębie populacji oraz pomiar poziomu wód gruntowych. Na wszystkich stanowiskach odnotowano sposób użytkowania gospodarczego (tab. 1).

W pracy przyjęto kategorie zagrożenia wprowadzone przez Międzynarodową Unię Ochrony Przyrody (IUCN 2001). Poprawne stosowanie powyższych kategorii wymaga znajomości długości trwania pokolenia badanej rośliny, jak i danych o zasobności istniejących i historycznych populacji. Z powodu braku szczegółowych danych, wartości powyższe przyjęto szacunkowo. Jedno pokolenie u *D. incarnata* trwa 15 lat (por. Tamm 1974). Liczebność populacji na stanowiskach nieistniejących w przypadku braku szczegółowych danych ustalono na 20 osobników (por. Abromeit i in. 1898–1940).

1.3. Zasady zbioru materiału

Osobniki z rodzaju *Dactylorhiza* rosnące na badanych stanowiskach oznaczano w terenie z użyciem klucza do storczyków Polski (Szlachetko, Skakuj 1996). Próby do badań elektroforetycznych i pomiarów morfometrycznych pobierano z zachowaniem warunków losowości. Część pomiarów morfometrycznych wykonano na miejscu, bez usuwania roślin ze stanowiska. Na potrzeby badań elektroforetycznych ścinano jedynie część kwiatostanu. Łącznie pobrano próby z 91 osobników z 8 na istniejących populacji, które poddano dalszej analizie.



Ryc. 1. Położenie i granice terenu badań oraz rozmieszczenie i stan zachowania stanowisk *D. incarnata* na terenie badań, a także liczebność istniejących populacji
1-3 – stanowiska istniejące (1 – poniżej 50 osobników, 2 – 50–100 osobników, 3 – powyżej 100 osobników), 4 – stanowiska niepotwierdzone, 5 – stanowiska nieistniejące

Fig. 1. Location and borders of the investigated area as well as distribution and a present state of *D. incarnata* localities in the area under research as well as number of individuals in the existing population
1-3 – existing localities (1 – less than 50 individuals, 2 – 50–100 individuals, 3 – more than 100 individuals), 4 – unconfirmed localities, 5 – non-existing localities

Tabela 1. Charakterystyka istniejących stanowisk *Dactylorhiza incarnata*Table 1. Characteristic of existing localities of *Dactylorhiza incarnata*

Stanowisko Locality	Data zbioru próby Date of sample collection	Wielkość próby Number of plants investigated	pH gleby soil pH	Poziom wód gruntowych Level of ground water	Siedlisko Habitat
Ostrowo k. Jastrzębiej Góry	02.07.2001	*	6,50	podtopione	torfowisko niskie
Tupadły	10.07.2001	24	4,89	10–13 cm	podsuszone torfowisko przejściowe
Pryśniewo	05.07.2001	30	6,55	3–5 cm do podtopienia	torfowisko przejściowe na pokładzie gytii jeziornej
Sulęczyno	24.06.2001	38	6,42	3–5 cm do podtopienia	torfowisko przejściowe na pokładzie gytii jeziornej
Wilcze Góry	09.07.2001	11	6,68	1–2 (10–15) cm	wilgotne łąki nadrzeczne z fragmentami torfowiska niskiego
Konarzyno	27.06.2001	7	7,30	3–5 cm	torfowisko przejściowe przy brzegu jeziora
Wiele	27.06.2001	20	7,00	7 cm	torfowisko niskie z wysiękami, przy brzegu jeziora
Udzierz	12.07.2001	15	6,81	1–10 cm do podtopienia	zarośla wierzbowe z fragmentem torfowiska niskiego, przy brzegu jeziora

* – Materiał do badań nie został pobrany ze względu na niewielką liczebność populacji (4 osobniki)

* – Samples have not been taken because of small number of individuals in population (4 specimens)

1.4. Elektroforeza enzymów

Jako źródło enzymów posłużyły tkanki załązni szczytowych kwiatów w kwiatostanie. Załąznie przechowywano w temperaturze -80°C , po czym rozdrabniano mechanicznie w buforze ekstrakcyjnym (Soltis i in. 1983). Uzyskanym homogenatem nasączano kawałki bibuły Whatman 3MM o wymiarach 3×5 mm, które umieszczano w płytkach z 12-procentowym żelem skrobiowym. Jednorazowo umieszczano w żelu do 30 bibulek. Standardowa elektroforeza horyzontalna prowadzona była przy napięciu 8–10 V/cm, przez 4,5–5 h, w temperaturze 4°C . Po zakończeniu elektroforezy żel cięto na dwie części, z których każdą barwiono na obecność odpowiedniego enzymu. Badaniami zmienności objęto 13 loci enzymatycznych (tab. 2), stosując dwa systemy buforów (tab. 3).

Tabela 2. Badane enzymy, kody, loci enzymatyczne, zastosowane bufony i barwienia
 Table 2. The enzymes studied, with their code numbers, putative encoding loci, buffer systems, and staining techniques

Enzym Enzyme	E.C. E.C.	Loci Loci	Bufor Buffer	Metoda barwienia Staining techniques
Dehydrogenaza jabłczanowa	1.1.1.37	Mdh-1, Mdh-2	2	Cheliak, Pitel 1984
Diaforaza NADH	1.6.99.1	Dia-1	1	Cheliak, Pitel 1984
Dehydrogenaza fosfoglukonianowa	1.1.1.44	Pgd	2	Cheliak, Pitel 1984
Dehydrogenaza szikimowa	1.1.1.25	Skd	2	Cheliak, Pitel 1984
Esteraza	3.1.1.1	Est-1	1	Wendel, Weeden 1989
Dehydrogenaza glukozyfosforanowa	1.2.1.12	G3pdh	2	Wendel, Weeden 1989
Isomeraza glukozyfosforanowa	5.3.1.9	Gpi-1, Gpi-2	2	Harris, Hopkinson 1976
Fosfoglukomutaza	5.4.2.2	Pgm-1, Pgm-2	2	Harris, Hopkinson 1976
Isomeraza triozofosforanowa	5.3.1.1	Tpi-1, Tpi-2	2	Soltis i in. 1983

Izozymy (tj. enzymy o podobnych właściwościach katalitycznych, lecz kodowane przez inne loci genowe) były numerowane kolejno, zaczynając od wykazującego największą ruchliwość elektroforetyczną w kierunku anody (np. Mdh-1, Mdh-2). Allozymy (białka enzymatyczne kodowane przez to samo locus) numerowano zgodnie z ich ruchliwością elektroforetyczną względem najczęstszego allelu w populacji *D. incarnata* z Pryśniewa, który został oznaczony jako 100. Genotypy ustalano bezpośrednio na podstawie fenotypów elektroforetycznych, zgodnie z informacjami o minimalnej liczbie izozymów i strukturze badanych białek (Gottlieb 1981; Weeden, Wendel 1989; Wendel, Weeden 1989). W celu sprawdzenia powtarzalności obserwowanych wzorów prążkowych elektroforezy przeprowadzano kilkakrotnie dla wybranych osobników z badanych populacji.

Obliczano następujące parametry zmienności genetycznej: procent loci polimorficznych dla populacji (P), średnią liczbę alleli w locus na populację (A), średnią heterozygotyczność obserwowaną na populację (H_o), miarę zróżnicowania międzypopulacyjnego (G_{ST}). Obliczenia wykonano z zastosowaniem programu BIOSYS-1 (Swofford, Selander 1989).

Tabela 3. Stosowane bufony

Table 3. Buffer systems

Nazwa buforu Buffer system	Bufor elektrodowy Electrode buffer	Bufor żelowy Gel buffer
LiOH/kwas borny (Soltis i in. 1983)	LiOH 0,038M/kwas borny 0,188M, pH 8,2	Tris 0,023M/kwas cytrynowy 0,005M pH 8,0
Tris/kwas jabłkowy (Selander i in. 1971)	Tris 0,10M/0,10M kwas jabłkowy/ 0,01M EDTA/0,01M chlorek magnezu, doprowadzony 1,0M NaOH do pH 7,4	bufor elektrodowy w rozcieńczeniu 1:9

Istotność różnic we frekwencjach alleli pomiędzy populacjami w obrębie badanego gatunku badano testem χ^2 i testem G. Wartości testów były zbliżone, toteż w pracy zaprezentowano jedynie wyniki testu χ^2 .

1.5. Cechy morfologiczne

Każdego osobnika opisywano za pomocą 22 cech ilościowych (tab. 4). Cechy wegetatywne (12–22) mierzono w terenie, kwiatowe zaś (1–11) na zebranych i przygotowanych kwiatach. W tym celu wybierano jeden kwiat ze środkowej części kwiatostanu, poszczególne jego części odcinano i przyklejano na tekturę, pomiary wykonywano w każdym przypadku po upływie miesiąca. Cechy wegetatywne mierzono z dokładnością do 0,5 cm, zaś elementy kwiatowe z dokładnością do 0,01 cm.

Tabela 4. Cechy morfologiczne mierzone u *Dactylorhiza incarnata* i ich kody
Table 4. Morphological features measured in *Dactylorhiza incarnata* and their codes

Cechy kwiatowe Flower features		Cechy wegetatywne Vegetative features	
Kod cechy Code of feature	Nazwa cechy Name of feature	Kod cechy Code of feature	Nazwa cechy Name of feature
1 WDW0*	Długość warzki od nasady do szczytu środkowej łatki	12 RLKW*	Liczba kwiatów
2 WSZM	Szerokość warzki	13 RWYS	Wysokość rośliny
3 ODWS	Długość ostrogi	14 RDKW	Długość kwiatostanu
4 OSZW	Szerokość ostrogi u nasady	15 LLLP	Liczba liści pochwowych
5 OSZD	Szerokość ostrogi w połowie jej długości	16 LLBP*	Liczba liści przysadkowych
6 KDPZ	Długość lewego zewnętrznego płatką okwiatu	17 LDNL	Długość najdłuższego liścia
7 KSPZ	Szerokość lewego zewnętrznego płatką okwiatu	18 LSNL	Szerokość najszerszego liścia
8 KDSR	Długość środkowego płatką okwiatu	19 RDDP	Długość od liścia przysadkowego do nasady kwiatostanu
9 KSSR	Szerokość środkowego płatką okwiatu	20 RD15*	Długość kwiatostanu od 1 do 5 kwiata
10 PDŁU	Długość przysadki	21 LDPK*	Długość dolnej przysadki
11 PSZE	Szerokość przysadki	22 RSRP	Średnica pędu

* – cecha nie spełniła założeń analizy wariancji i nie została włączona do dalszych analiz

* – feature that has not fulfilled conditions of variance analysis and has not been used in the further analyses

1.6. Metody analizy biostatystycznej

Badane populacje scharakteryzowano na podstawie wartości średniej i odchylenia standardowego mierzonych cech. Zgodność rozkładu cech w populacjach z rozkładem normalnym sprawdzano testem Kołmogorowa-Smirnowa. Jednorodność wariancji badanych cech między populacjami sprawdzano za pomocą testu Levena. Cechy, które nie spełniały założeń o addytywności, homogeniczności i/lub normalności, podlegały transformacji logarytmicznej. Różnice pomiędzy populacjami pod względem badanych cech morfologicznych testowano za pomocą analizy wariancji. W celu ustalenia cech, które w największym stopniu różnicują badane populacje, zastosowano analizę dyskryminacyjną. Wszystkie obliczenia wykonano z zastosowaniem programu STATISTICA 5.1 (StatSoft, Inc. 1996).

2. Wyniki

2.1. Stan zachowania populacji *Dactylorhiza incarnata* w regionie gdańskim

Badania terenowe potwierdziły występowanie osobników *D. incarnata* jedynie na 8 z 56 stanowisk zestawionych na podstawie literatury (ryc. 1, tab. 5). Sześć stanowisk uznano za niepotwierdzone, gdyż mimo braku osobników stoplamka krwistego nie zaobserwowano widocznych niekorzystnych zmian siedliskowych. Wskazane byłoby w tym wypadku ich kilkuletnie monitorowanie na okoliczność powtórnego pojawienia się badanego gatunku.

Większość, bo ponad 70% z 56, zestawionych stanowisk stoplamka krwistego uznano za nieistniejące. Stwierdzono na nich degenerację siedliska związaną z efektywnym odwodnieniem. Ponad 80% tych stanowisk stanowią obecnie użytki gospodarcze (kośne łąki, pastwiska) bądź nieużytki. Pozostałe weszły w skład terenów zurbanizowanych (głównie budownictwo rekreacyjne). Na kilku pozostałych ekspansja trzciny (*Phragmites australis*) lub pałki szerokolistnej (*Typha latifolia*) związana najprawdopodobniej z eutrofizacją mogła być przyczyną wycofania się badanego gatunku.

Istniejące populacje liczą od kilku do kilkuset osobników. Pierwszą klasę obfitości reprezentują populacje z Konarzyn, Wilczych Gór, Udzierzy i Ostrowa, w których liczba osobników nie przekracza 50. Do drugiej klasy zaliczają się populacje z Wiela i Tupadł (50–100 osobników), do trzeciej z Sulęczyna i Pryśniewa liczące 300–500 osobników.

Wody gruntowe na większości istniejących stanowisk znajdowały się tuż pod powierzchnią gruntu lub stagnowały na jego powierzchni, a odczyn gleby był obojętny (średnio pH=6,5). Warunki te odpowiadały wymaganiom badanego gatunku. W najmniej korzystnych warunkach siedliskowych stoplamki krwistej rosła w Tupadłach, gdzie odczyn gleby wynosił 4,89, a wody gruntowe znajdowały się na głębokości 10–13 cm.

Tabela 5. Zestawienie stanowisk *Dactylorhiza incarnata*, ich stan zachowania i użytkowanie gospodarczeTable 5. Location of populations of *Dactylorhiza incarnata*, their present state and economic use

Lp. No	Stanowisko, miejscowość Locality	Kwadrat ATPOL ATPOL square	Źródło Source	Stan zachowania Present state of locality	Użytkowanie terenu/Uwagi Land use/Notes
1	Młynek	CA17	Buliński 1994	Nieistniejące	Pastwiska, łąki kośne
2	Dębki, na SE od zabudowań*	CA37	Szlachetko 1987	Nieistniejące	Urbanizacja
3	Dębki, na SSW od zabudowań*	CA37	Szlachetko 1987	Nieistniejące	Urbanizacja
4	Jastrzębia Góra, na W od zabudowań (Ostrowo k. Jastrzębiej Góry, przyp. aut.)	CA37	Kowalska 1984	Istniejące	Zagrożenie ze strony urbanizacji
5	między Karwią a Karwieńskim Dworem	CA37	Bernacki 1993	Nieistniejące	Urbanizacja
6	Karwia, na S od wsi **	CA37	Kowalska 1984	Nieistniejące	Urbanizacja
7	Karwia, na W od wsi **	CA37	Kowalska 1984	Nieistniejące	Urbanizacja
8	Karwia, na SEE od wsi **	CA37	Kowalska 1984	Nieistniejące	Urbanizacja
9	Ostrowo k. Władysławowa, na NE od wsi	CA38	Kowalska 1984	Nieistniejące	Urbanizacja
10	Tupadły, na SW od wsi	CA38	Herweg 1914, Szlachetko 1987	Istniejące	Zagrożenie ze strony wypasu i melioracji
11	Piaśnica k. Żarnowca	CA46	Szlachetko 1987	Nieistniejące	Melioracje, użytkowanie zarzucone
12	Brzyzo, na N od J. Żarnowieckiego	CA46	Szlachetko 1987	Nieistniejące	Zmiana stosunków wodnych i użytkowania – elektrownia wodna Żarnowiec
13	Karlikowo, na E od wsi	CA47	Dziedzic-Kulpińska 1992	Nieistniejące	Melioracje, łąki kośne
14	Lisewo, na S od wsi	CA47	Dziedzic-Kulpińska 1992	Nieistniejące	Pastwiska
15	Łebcz k. Pucka, na W od miejscowości	CA48	Szlachetko 1987	Nieistniejące	Melioracje, łąki kośne
16	Pryśniewo, na SW od wsi	CA57	Szlachetko 1987	Istniejące	Zagrożenie ze strony wypasu i melioracji

Lp. No	Stanowisko, miejscowość Locality	Kwadrat ATPOL ATPOL square	Źródło Source	Stan zachowania Present state of locality	Użytkowanie terenu/Uwagi Land use/Notes
17	Pryśniewo	CA57	Szlachetko 1987	Nieistniejące	Melioracje, pastwiska
18	Mostowe Błoto k. Redy	CA58	Rajchel 1964	Nieistniejące	Urbanizacja, <i>D. incarnata</i> subsp. <i>ochroleuca</i>
19	Mrzezino, na S od wsi	CA59	Szlachetko 1987	Nieistniejące	Melioracje, łąki kośne, pastwiska
20	Oslonino, na S od wsi	CA59	Szlachetko 1987	Nieistniejące	Melioracje, ekspansja trzciny <i>D. incarnata</i> subsp. <i>ochroleuca</i>
21	Paraszyno, na S od wsi***	CA66	Sekcja Bot. 1985	Nieistniejące	Melioracje, łąki kośne
22	Paraszyno, na NNE od wsi ***	CA66	Sekcja Bot. 1985	Nieistniejące	Sztuczny zbiornik elektrowni wod- nej
23	Wejherowo	CA67	Preuss 1911	Nieistniejące	Urbanizacja
24	Rumia	CA68	Minasiewicz 1997	Nieistniejące	Osuszenie terenu
25	Gdynia-Chylonia	CA69	Herweg 1914	Nieistniejące	Urbanizacja
26	Szemud	CA77	Konopelska-Filiks 1987	Nieistniejące	Melioracje, łąki kośne
27	Jeleńska Huta–Wysoka	CA78	Herweg 1914	Nieistniejące	Melioracje
28	Mały Kack–Chwarzno	CA79	Szlachetko 1987	Nieistniejące	Łąki kośne
29	Chwarzno	CA79	Herweg 1914	Nieistniejące	Urbanizacja
30	Mirachowo k. Kartuz	CA86	Krawiec P., mat. zieln. (POZ), za Bernackim 1993	Nieistniejące	Osuszenie
31	Sopot	CA89	Herweg 1914	Nieistniejące	Urbanizacja
32	Sulęczyño	CA95	Herbich i in. 1995	Istniejące	Brak użytkowania
33	SE brzeg J. Potulskiego	CB06	Herbich i in. 1994	Niepotwier- dzone	Brak użytkowania
34	Bartoszyłas	CB06	Buliński 1994	Nieistniejące	Pastwiska
35	Wybudowanie Gołubia	CB06	Mieńko i in. 1997	Nieistniejące	Urbanizacja
36	Łubiana, S brzeg J. Granicznego	CB15	Mieńko i in. 1997	Nieistniejące	Łąki kośne, penetracja turystyczna

Lp. No	Stanowisko, miejscowość Locality	Kwadrat ATPOL ATPOL square	Źródło Source	Stan zachowania Present state of locality	Użytkowanie terenu/Uwagi Land use/Notes
37	Wlk. Klincz–Wybudowanie	CB16	Buliński 1994	Nieistniejące	Urbanizacja
38	Wlk. Klincz	CB16	Buliński 1994	Nieistniejące	Urbanizacja
39	Gostomko, na E od wsi	CB16	Mieńko i in. 1999	Nieistniejące	Wydobycie torfu, melioracja
40	Lubieszyn, na E od wsi, dolina rzeki Więcisy	CB18	Buliński 1994	Nieistniejące	Łąki kośne
41	Skrzydłótko, na W od wsi	CB18	Buliński 1994	Niepotwierdzone	Brak użytkowania
42	Horniki Dln., na NE od wsi	CB18	Buliński 1994	Nieistniejące	Urbanizacja, ekspansja trzciny (<i>Phragmites australis</i>) i pałki (<i>Typha latifolia</i>)
43	Wilcze Góry, na S od wsi	CB19	Buliński 1994	Istniejące	Ekstensywnie użytkowane łąki kośne
44	W brzeg j. Cheb	CB25	Sągin 1987	Nieistniejące	Pastwiska, melioracje
45	Bartoszyłas, na SEE od wsi	CB27	Buliński 1994	Nieistniejące	Pastwiska
46	Konarzyny, SW brzeg j. Krąg	CB27	Mieńko i in. 1998	Istniejące	Brak użytkowania
47	N brzeg j. Czyżon	CB28	Buliński 1994	Nieistniejące	Pastwiska, łąki kośne, ekspansja trzcinowisk
48	Czysta Woda	CB29	Buliński 1994	Nieistniejące	Łąki kośne, melioracje
49	S brzeg J. Godziszewskiego	CB29	Jelinowski i in. 1986	Nieistniejące	Sztuczny zalew, ekspansja olszyn
50	Żabno	CB29	Buliński 1994	Nieistniejące	Brak użytkowania, uprawy rolne w otoczeniu stanowiska
51	Janin	CB29	Buliński 1994	Nieistniejące	Brak użytkowania, uprawy rolne w otoczeniu stanowiska
52	Przytarnia, na NNE od wsi	CB35	Mieńko i in. 1997	Nieistniejące	Urbanizacja, melioracje
53	Wiele, N brzeg J. Wielewskiego	CB35	Mieńko i in. 1997	Istniejące	Brak użytkowania

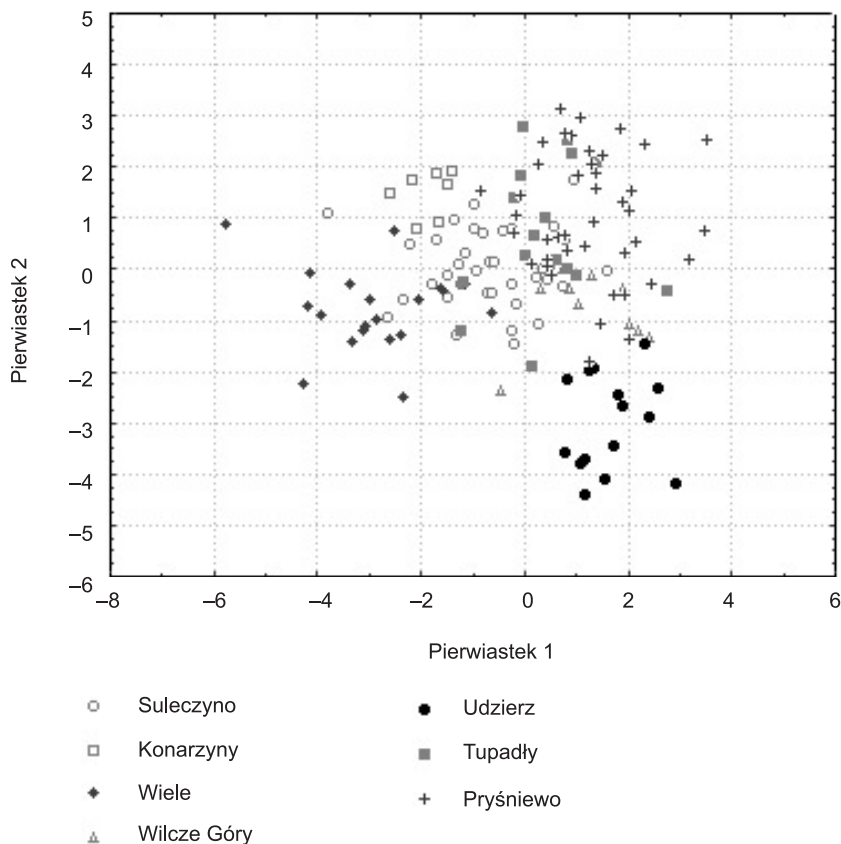
Lp. No	Stanowisko, miejscowość Locality	Kwadrat ATPOL ATPOL square	Źródło Source	Stan zachowania Present state of locality	Użytkowanie terenu/Uwagi Land use/Notes
54	Struga, na S od wsi	CB38	Mieńko i in. 1997	Nieistniejące	Brak użytkowania; ekspansja olszyn i trzciniowisk
55	Dąbrówka, na NNE od wsi, dolina rzeki Gościciny	CB67	Mieńko i in. 1998	Nieistniejące	Łąki kośne, pastwiska
56	NE brzeg j. Udzierz	DB60	Buliński 1991	Istniejące	Rezerwat „Jezioro Udzierz”

* , ** , *** – stanowiska oznaczone tą samą liczbą gwiazdek zaznaczono na rycinie 1 jednym krzyżykiem
* , ** , *** – localities marked with the same number of asterisks are shown with the one cross in the figure 1

Wszystkie istniejące populacje *D. incarnata* w regionie gdańskim są w mniejszym lub większym stopniu poddane antropopresji. Gospodarka człowieka ma na razie najmniejszy wpływ na duże, dobrze zachowane populacje z Sulęczyna i Pryśniewa, choć areal tej ostatniej skurczył się znacznie w ciągu ostatniej dekady wraz z powiększaniem powierzchni pastwisk. Niewielka liczebność populacji z klasy I czyni je szczególnie wrażliwymi zarówno na wpływ człowieka, jak i na zjawiska stochastyczne. Najbardziej zagrożona wydaje się populacja z Konarzyn ze względu na użytkowanie przyległych terenów i postępującą sukcesję w kierunku zarośli wierzbowych, wynikającą z obniżania się poziomu wód gruntowych. Niewielka zaś populacja z Ostrowa może wkrótce zniknąć pod zabudowę lotniskową. Populacja w Tupadłach, mimo że nadal stosunkowo liczna, wykazuje jednak znamiona regresji. Z danych literaturowych wynika, że jeszcze 15 lat temu była ona pod względem liczby osobników i zajmowanego obszaru kilkakrotnie większa od obecnej (por. Szlachetko 1987). Populacja z Wiela jest wybitnie zagrożona penetracją turystyczną i zabudową na cele rekreacyjne.

2.2. Analiza morfometryczna populacji

Analiza wariancji wykazała, że populacje różnią się od siebie istotnie pod względem wszystkich 16 cech morfometrycznych. W celu ustalenia, które z nich w największym stopniu różnicują badane populacje, zastosowano analizę dyskryminacyjną (skumulowany procent wyjaśnionej wariancji dla dwóch pierwszych pierwiastków kanonicznych wyniósł 67%). Wykazała ona, że populacje tworzą stosunkowo jednolitą grupę pod względem cech morfologicznych, a najbardziej różnicują je wielkość ostrogi (I pierwiastek kanoniczny – ODWS: $-0,49$ i OSZW: $-0,46$), długość najdłuższego liścia i szerokość przysadki (II pierwiastek kanoniczny – LDNL: $-0,36$ i PSZE: $-0,36$) (ryc. 2). Nie są to jednak cechy kluczowe stosowane w klasyfikacji wewnątrzgatunkowej *D. incarnata* (por. np. Szlachetko, Skakuj 1995). Różnice między populacjami w stosunku do powyższych cech odzwierciedlają najprawdopodobniej różnice siedliskowe między nimi dotyczące np. gatunku dominującego zapylacza w przypadku wielkości ostrogi (por. Andersson 1994).



Ryc. 2. Wykres rozrzutu wartości kanonicznych dla dwóch pierwszych pierwiastków kanonicznych

Fig. 2. Scatterplot of canonical scores for the first two canonical roots

Analiza statystyczna wybranych cech morfologicznych wykazała, że istniejące populacje można zaklasyfikować do podgatunku typowego *D. incarnata*. Na uwagę zasługują jednak populacje z Konarzyn i Udzierzy, pierwsza z powodu stosunkowo dużych jak na ten takson kwiatów z szerokimi ostrogami połączonych z niewielkimi rozmiarami samej rośliny, druga ze względu na wysokie średnie wartości wielu badanych cech (tab. 6).

2.3. Zmienność allozymowa

Z badanych 13 loci enzymatycznych jedynie Mdh-2 okazało się polimorficzne (wg kryterium 0,99). Zmienna okazała się tylko jedna z badanych populacji (tab. 7), stwierdzono jednakże istotne odstępstwa od równowagi Hardy'ego-Weinberga w tym loci ($\chi^2=20$; $df=1$; $\alpha=0,05$). Test χ^2 wykazał istotne różnice pomiędzy populacjami na poziomie allozymowym ($\chi^2=20$; $df=6$; $\alpha=0,05$), które wynikały z domi-

Tabela 6. Średnie i odchylenia standardowe (w nawiasie) mierzonych cech w populacjach *Dactylorhiza incarnata*Table 6. Averages and standard deviation (in brackets) of measured features in *Dactylorhiza incarnata* populations

Kod cechy Code of a feature	Nazwa cechy Name of a feature	Tupadły	Pryśniewo	Sulęczyno	Wilcze Góry	Konarzyny	Wiele	Udzierz
WSZM	Szerokość warzki	0,73 (0,07)	0,73 (0,08)	0,75 (0,06)	0,76 (0,10)	0,72 (0,09)	0,68 (0,07)	0,76 (0,08)
ODWS	Długość ostrogi	0,71 (0,05)	0,66 (0,09)	0,71 (0,06)	0,67 (0,07)	0,80 (0,04)	0,83 (0,06)	0,70 (0,06)
OSZW	Szerokość ostrogi u nasady	0,24 (0,05)	0,22 (0,03)	0,28 (0,04)	0,25 (0,05)	0,30 (0,02)	0,31 (0,04)	0,24 (0,05)
OSZD	Szerokość ostrogi w połowie jej długości	0,19 (0,04)	0,17 (0,03)	0,23 (0,05)	0,21 (0,05)	0,21 (0,02)	0,23 (0,03)	0,23 (0,04)
KDPZ	Długość lewego zewnętrznego płatka okwiatu	0,68 (0,07)	0,69 (0,07)	0,66 (0,06)	0,69 (0,08)	0,76 (0,07)	0,59 (0,06)	0,68 (0,07)
KSPZ	Szerokość lewego zewnętrznego płatka okwiatu	0,27 (0,04)	0,27 (0,04)	0,26 (0,05)	0,26 (0,04)	0,26 (0,04)	0,27 (0,04)	0,31 (0,03)
KDSR	Długość środkowego płatka okwiatu	0,62 (0,04)	0,61 (0,07)	0,58 (0,07)	0,64 (0,07)	0,70 (0,07)	0,55 (0,05)	0,58 (0,07)
KSSR	Szerokość środkowego płatka okwiatu	0,28 (0,05)	0,26 (0,05)	0,26 (0,04)	0,27 (0,04)	0,24 (0,04)	0,29 (0,02)	0,28 (0,02)
PDŁU	Długość przysadki	2,05 (0,31)	1,87 (0,26)	2,05 (0,16)	1,88 (0,26)	2,28 (0,18)	1,87 (0,37)	1,68 (0,23)
PSZE	Szerokość przysadki	0,34 (0,06)	0,31 (0,06)	0,34 (0,05)	0,43 (0,04)	0,29 (0,05)	0,33 (0,05)	0,39 (0,05)
RWYS	Wysokość rośliny	33,6 (9,63)	41,5 (7,45)	6,27 (0,44)	6,61 (0,81)	5,59 (0,39)	6,03 (0,58)	7,03 (0,81)
RDKW	Długość kwiatostanu	6,97 (1,64)	7,47 (1,85)	2,51 (0,34)	2,87 (0,34)	2,61 (0,27)	2,83 (0,27)	3,13 (0,46)
LLLP	Liczba liści	3,75 (0,68)	3,79 (0,47)	3,45 (0,60)	4,20 (0,63)	3,71 (0,76)	3,75 (0,55)	3,27 (0,59)
LDNL	Długość najdłuższego liścia	15,84 (3,28)	16,68 (3,50)	17,52 (2,85)	19,72 (4,16)	19,49 (1,86)	15,49 (3,18)	22,45 (3,12)
LSNL	Szerokość najszerszego liścia	1,78 (0,52)	1,98 (0,47)	1,95 (0,44)	2,83 (0,80)	1,71 (0,34)	2,06 (0,39)	2,33 (0,47)
RSRP	Średnica pędu	0,62 (0,14)	0,68 (0,16)	0,60 (0,15)	0,79 (0,19)	0,49 (0,07)	0,54 (0,11)	0,70 (0,13)

Tabela 7. Frekwencje alleli w jedynym locus wykazującym zmienność w badanych populacjach *Dactylorhiza incarnata*Table 7. Allele frequencies in the only variable locus in studied populations of *Dactylorhiza incarnata*

Populacja Population	Tupadły	Pryśniewo	Sulęczyno	Wilcze Góry	Konarzyny	Wiele	Udzierz
N	17	45	38	11	7	20	15
Mdh-2							
100	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,200	1,000
105	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,800	0,000

N – liczba osobników

N – number of individuals

nacji rzadkiego allelu Mdh-2¹⁰⁵ w populacji z Wiele. Obliczono podstawowe parametry zmienności genetycznej dla *D. incarnata* ($A=1,01$; $P=1,1$; $H_o=0,003$) oraz wartość $G_{ST}=0,55$.

3. Wnioski

3.1. Stan zachowania

Podstawową przyczyną zanikania stanowisk badanego gatunku okazało się efektywne odwadnianie gruntów i związana z tym degradacja siedlisk. Obniżenie poziomu wód gruntowych uruchamia szereg procesów zmieniających m.in. strukturę, termikę oraz odczyn podłoża, który z reguły ulega zakwaszeniu. Dla gatunku takiego jak stoplamek krwisty, przywiązany do siedlisk o obojętnym lub lekko zasadowym odczynie gleby, zmiany takie wpływają negatywnie na kondycję populacji.

Godny uwagi jest fakt stwierdzenia podczas badań terenowych 6 stanowisk, na których mimo braku widocznych objawów degradacji siedliska nie odnaleziono osobników badanego gatunku. Sytuacja ta najprawdopodobniej nie ma związku z efemerycznym charakterem pojawów storczykowatych, choć niewątpliwie monitoring tych populacji przez kilka kolejnych lat byłby wskazany. Brak *D. incarnata* na tych stanowiskach może być wynikiem zaburzenia równowagi mykoflory, będący następstwem bezpośredniego nawożenia łąk bądź spływu nawozów z pól. Gatunki z rodzaju *Dactylorhiza* wymagają infekcji grzybem we wstępnych etapach kiełkowania nasion. Badania eksperymentalne dowiodły, że źródło i dostępność składników mineralnych w podłożu determinuje równowagę pomiędzy grzybem a storczykiem we wczesnych etapach infekcji (Hadley, Pegg 1989). Zachwianie tej równowagi przez nawożenie ubogich układów, w jakich z reguły rosną badane storczyki, może doprowadzić do zmiany charakteru infekcji na patogenną, tym bardziej, że charakterystyczne dla *Dactylorhiza* gatunki grzybów z rodzaju *Rhizoctonia* są groźnymi patogenami roślin (Withner 1974; Hadley, Pegg 1989). Sytuacja taka prowadzić może

do zmiany struktury wiekowej populacji *D. incarnata*. Z upływem czasu coraz mniej liczne będą klasy osobników juwenilnych, co skutkować będzie stopniowym wymieraniem populacji. Dlatego też tak duże znaczenie ma kompleksowa ochrona siedlisk z uwzględnieniem ochrony symbiontów, jak i gatunków zapylaczy (Ackerman 1998). Ustalenie rzeczywistych przyczyn wymarcia populacji *D. incarnata* na tych stanowiskach byłoby cenne nie tylko z punktu widzenia zbioru informacji o biologii zagrożonego storczyka. Po objęciu monitoringiem ekologicznym mogą one stanowić potencjalne miejsca reintrodukcji badanego gatunku.

Pod koniec XIX i na początku XX wieku w Prusach Zachodnich (obszar ten w znacznej części pokrywa się z wyznaczonym terenem badań) stolpemek krwisty był na tyle częsty, że nie widziano potrzeby odnotowywania jego stanowisk (por. Klinggraeff 1881; Abromeit i in. 1898–1940). Gatunek ten nie znalazł się również na czerwonej liście roślin zagrożonych w Polsce z 1986 (Zarzycki 1986) i 1992 roku (Zarzycki, Szelaąg 1992). Niepokojące zjawisko zanikania stanowisk tego taksonu odnotowano na Górnym Śląsku (Parusel i in. 1996), przypisując jemu w lokalnej czerwonej liście roślin kategorię E – wymierający. W Polsce Środkowej (Jakubowska-Gabara, Kucharski 1999), na Pomorzu Zachodnim i w Wielkopolsce (Żukowski, Jackowiak 1995) *D. incarnata* przypisano kategorię V – narażony. Już wyniki pobieżnej oceny zachowania populacji stolpamka krwistego w Wielkopolsce w 1999 roku ujawniły zanik znacznej części populacji tego gatunku oraz zmniejszenie liczebności i osłabienie ogólnej kondycji u szeregu następnych (Chmiel, Minasiewicz, mat. niepubl.). Powyższe spostrzeżenia, jak i wyniki niniejszych badań wskazują, że przynajmniej regionalnie skala zagrożenia populacji stolpamka krwistego wzrasta. W skali badanego obszaru zebrane dane uprawniają do nadania *D. incarnata* rangi gatunku wymierającego (EN), ze względu na przypadek A2, tj. ponad 50% spadek liczby osobników w ostatnich 3 pokoleniach w wyniku nieodwracalnych zmian siedliska (por. IUCN 2001).

3.2. Struktura genetyczna populacji

Dactylorhiza incarnata jest gatunkiem charakteryzującym się niską zmiennością allozymową w znacznej części swego zasięgu (Hedren 1996; Pedersen 1998; Minasiewicz 2001). Sytuacja taka jest raczej rzadko spotykana u roślin o szerokim zasięgu i dominującym rozmnażaniu płciowym (por. Hamrick i in. 1991; J. Minasiewicz i in., mat. niepubl.). Wyjątkowo niską zmienność genetyczną gatunku można tłumaczyć znacznymi i długotrwałymi redukcjami liczebności w historii całego gatunku oraz utratą alleli podczas wędrówki taksonu na północ wraz za ustępującym łądolołem (Hewitt 1995). Ta sytuacja najprawdopodobniej miała miejsce u stolpamka krwistego (por. Pedersen 1998).

Badane populacje charakteryzują się wyjątkowo małą zmiennością genetyczną (allozymową), co uwidaczniają obliczone parametry ($A=1,01$; $P=1,1$; $H_0=0,003$). Są one znacząco niższe od podawanych dla roślin o podobnej biologii i typie rozmnażania (por. Hamrick i in. 1991). Największy procent zmienności skupia się pomiędzy populacjami ($G_{st}=0,55$), co może sugerować dominację samopłodności (Loveless, Hamrick 1984), jednak wstępne wyniki badań eksperymentalnych nad

rozmnażaniem tego gatunku nie potwierdzają tej sytuacji (J. Minasiewicz i in., mat. niepubl.). Uzyskana wartość współczynnika najprawdopodobniej wynika więc z obecności jednego polimorficznego locus, który w jednej populacji ma wysoką frekwencję rzadkiego allelu (Mdh-2¹⁰⁵).

Niższa w porównaniu z duńskimi zmienność genetyczna badanych populacji (por. Pedersen 1998) świadczy o wpływie na ich strukturę genetyczną krzyżowania wsobnego, które może zacząć przeważać w populacjach o zmniejszającej się liczbie osobników. Taka też jest najprawdopodobniej przyczyna obserwowanej nierównowagi gametycznej w loci Mdh-2 w populacji z Wiela. Sytuację dodatkowo komplikują dosyć duże i stale powiększające się (wskutek zanikania kolejnych stanowisk) odległości dzielące istniejące populacje. Utrudnia to znacząco przepływ genów między nimi, powodując z czasem coraz większe ubożenie puli genowej gatunku (Qamaruz-Zaman i in. 1998). Wymieranie więc kolejnych populacji zmniejsza szansę na przetrwanie następnych. Małe populacje, jakie w większości przetrwały w badanym regionie, narażone są także na konsekwencje dryfu genetycznego (Barret, Kohn 1991). Ogół tych zjawisk prowadzi nieuchronnie do erozji genetycznej i w konsekwencji do utraty różnorodności genetycznej. Powoduje to obniżenie odporności istniejących populacji na zmiany warunków siedliskowych oraz zjawiska stochastyczne, co w efekcie może prowadzić do ich całkowitego wymarcia (Qamaruz-Zaman i in. 1998).

3.3. Zmienność morfologiczna

Studia nad *Dactylorhiza incarnata* pokazują, że gatunek ten cechuje się dużą zmiennością morfologiczną (Bernacki 1993; Minasiewicz 2001) wynikającą z plastyczności fenotypowej (Tukałło, Minasiewicz 2003). Badane populacje stoplamka krwistego tworzą jednak dość jednorodną grupę pod względem morfologicznym. Istniejące różnice w wartościach dla pojedynczych cech (por. tab. 6) mogą być wynikiem przystosowania do lokalnych warunków siedliskowych. Uwagę zwracają populacje z Udzierzy i Wiela wyróżniające się na tle pozostałych populacji wysokimi wartościami średnich dla wielu cech.

3.4. Strategie ochrony

Najmniejsze szanse na przetrwanie, jeżeli nie przestaną działać czynniki szkodliwe, mają populacje o niskiej liczebności, tj. z Konarzyn, Wilczych Gór, Ostrowa i Udzierzy, choć ta ostatnia wydaje się najmniej zagrożona, gdyż znajduje się na terenie rezerwatu przyrody „Jezioro Udzierz” utworzonego w 2000 roku.

W przypadku populacji o II klasie obfitości (Wiele, Tupadły) korzystne byłoby ograniczenie użytkowania gospodarczego w ich otoczeniu i objęcie ich monitoringiem ekologicznym. Dotyczy to szczególnie populacji z Wiela ze względu na jej genetyczne zróżnicowanie. Niestety zarówno lokalizacja, jak i stosunkowo niewielki obszar samego stanowiska prawdopodobnie uniemożliwią objęcie jej ochroną rezerwatową. Ochroną prawną natomiast należałoby objąć populację z Sulęczyna. Warunki siedliskowe na tym stanowisku są optymalne dla badanego gatunku, a

jego populacja jest liczna i zasiedla duży obszar. Ze względu na bogactwo florystyczne tego terenu planuje się utworzenie tam rezerwatu „Mechowiska Sulęczyńskie” (por. Herbichowa i in. 2000). Populacja w Pryśniewie, choć nadal bardzo liczna, dawniej zajmowała większy obszar, na którym obecnie znajdują się pastwiska. Proponuje się objęcie ochroną prawną przynajmniej części tej populacji. Można to zrobić np. poprzez poszerzenie w kierunku północno-wschodnim istniejącego już użytku ekologicznego „Pryśniewska Łąka”. Rosną tam nie tylko osobniki *Dactylorhiza incarnata*, ale także inne gatunki storczyków: *D. majalis*, *D. maculata*, *Epipactis palustris* i *Listera ovata*.

W przyszłości możliwa stanie się także ochrona *ex situ* stoplamka krwistego w powstającym Nadmorskim Ogrodzie Botanicznym Uniwersytetu Gdańskiego. Kolekcja, która zostanie tam założona, będzie mogła na przykład posłużyć jako źródło materiału do ewentualnej reintrodukcji badanego storczyka. Biorąc jednak pod uwagę niezwykle duże koszty, które wiążą się z reintrodukcją zagrożonych gatunków (Ledig 1996), lepiej jest chronić istniejące już populacje (Brown, Briggs 1991). Zważywszy na fakt, że flora badanego terenu jest jeszcze daleka od całkowitego poznania, można się spodziewać, że prowadzenie dalszych badań florystycznych przyniesie za sobą odkrycie nowych stanowisk stoplamka krwistego.

Wyniki analizy biometrycznej nie dają podstaw do zaklasyfikowania badanych populacji jako podgatunków innych niż typowy, tj. *D. incarnata* subsp. *incarnata*. Jednoczesny brak zasadniczych różnic allozymowych nie daje podstaw do wyróżnienia ekotypów na terenie objętym badaniami. W tym wypadku, biorąc pod uwagę przypuszczalne zubożenie genetyczne małych populacji, materiał do ewentualnej hodowli *ex situ* w ogrodzie botanicznym, do banku genów czy też ewentualnej reintrodukcji powinno się pobierać z populacji o dużej liczebności, tj. z Pryśniewa, Sulęczyzna i Wiela.

4. Podsumowanie

Stan zachowania populacji *Dactylorhiza incarnata* w regionie gdańskim uprawnia do nadania temu taksonowi rangi gatunku wymierającego (EN) ze względu na przypadek A2, tj. ponad 50-procentowy spadek liczby osobników w ostatnich 3 pokoleniach w wyniku nieodwracalnych zmian siedliska (por. IUCN 2001). Główną przyczyną zanikania stanowisk badanego gatunku jest osuszanie siedlisk związane z użytkowaniem gospodarczym, a w mniejszym stopniu urbanizacja.

Zmienność allozymowa badanych populacji kształtuje się na bardzo niskim poziomie, co w dużej mierze jest konsekwencją spadku liczby stanowisk i liczebności badanych populacji.

Obraz zmienności morfologicznej i genetycznej populacji *Dactylorhiza incarnata* nie daje podstaw do wyróżnienia ekotypów na badanym obszarze. Jako źródło materiału do ewentualnej ochrony *ex situ* powinny posłużyć populacje z Pryśniewa, Sulęczyzna i Wiela.

Za priorytetowe działania w celu ochrony badanego taksonu w regionie gdańskim należy uznać zatwierdzenie planowanego rezerwatu torfowiskowego „Mechowiska Sulęczyńskie” oraz poszerzenie obecnie istniejącego użytku ekologicznego „Pryśniewska Łąka”. Wskazane byłoby również objęcie monitoringiem ekologicznym pozostałych stanowisk, zwłaszcza stanowiska w Wielu. Następnie rozwój Nadmorskiego Ogrodu Botanicznego Uniwersytetu Gdańskiego pozwoliłby na założenie odpowiedniej kolekcji i tym samym ochronę *ex situ* badanego gatunku.

Podziękowania

Bardzo dziękujemy Panu prof. dr. hab. Dariuszowi L. Szlachetko, dr. Tomaszowi S. Olszewskiemu i dr. Ryszardowi Markowskiemu za krytyczne uwagi do manuskryptu.

Praca zrealizowana w ramach projektu badawczego finansowanego przez: Wojewódzki Fundusz Ochrony Środowiska i Gospodarki Wodnej w Gdańsku (grant nr WNOŚ/210/47/2001), Uniwersytet Gdański (grant nr BW/11BO-5-0269-1).

Literatura

- ABROMEIT J., NEUHOF W., STEFFEN H. 1898–1940. Flora von Ost- und Westpreussen.: 1/1–25 (1898): 1–402, 2/26–43 (1903): 403–684, 3/44–49 (1926): 685–780, 4/50–52 (1931): 781–828, 5/53–55 (1934): 829–876, 6/56–78 (1940): 877–1248. Kommission-sverlag Gräfe und Unzer, Berlin-Königsberg.
- ACKERMAN D.J. 1998. Evolutionary potential in orchids: patterns and strategies for conservation. – *Selbyana* 19(1): 8–14.
- ANDERSSON E. 1994. On the identity of orchid populations: a morphometric study of the *Dactylorhiza traunsteineri* complex in eastern Sweden. – *Nord. J. Bot.* 14(3): 269–275.
- BARRET C. H. S., KOHN R. J. 1991. Genetic and evolutionary consequences of small population size in plant: implication for conservation. – W: FALK D. A., HOLSINGER K. E. (red.), Genetics and conservation of rare plants. Oxford University Press, New York, s. 4–26.
- BERNACKI L. 1993 (mscr.). Studia systematyczno-taksonomiczne sekcji *Latifoliae sensu* (H. G. Reichenbach f.) *L. A. Smolianinova* rodzaju *Dactylorhiza* N. J. Necker ex S. A. Nevski w Polsce. Praca doktorska wykonana w Katedrze Botaniki Systematycznej Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach, Katowice.
- BROWN A. H. D., BRIGGS J. D. 1991. Sampling strategies for genetic variation *ex situ* collection of endangered plant species. – W: FALK D. A., HOLSINGER K. E. (red.), Genetics and conservation of rare plants. Oxford University Press, New York, s. 99–123.
- BULIŃSKI M. 1991 (mscr.). Szata roślinna. – W: PRZEWOŹNIAK M. (red.), Dokumentacja przyrodnicza projektowanego rezerwatu przyrody Jez. Udzierz. BPiWP Proeko, Gdańsk.
- BULIŃSKI M. 1994. Systematyczny przegląd flory roślin naczyniowych doliny Wierzycy i dolin jej trzech dopływów. – *GTN, Acta Biol.* 9: 9–174.
- CHELIAK W. M., PITEL J. A. 1984. Techniques for starch gel electrophoresis of enzymes from forest trees species. Inf. Rep. Pl-X-42, Petawawa National Institute, Canadian Forestry Service.

- DZIEDZIC-KULPIŃSKA M. 1992 (mscr.). Flora naczyniowa dna doliny Czarnej Wdy. Praca magisterska wykonana w Katedra Ekologii Roślin i Ochrony Przyrody Uniwersytetu Gdańskiego, Gdańsk.
- FALK D. A. 1991. Joining biological and economic models for conserving plant genetic diversity. – W: FALK D. A., HOLSINGER K. E. (red.), Genetics and conservation of rare plants. Oxford University Press, New York, s. 209–225.
- GOTTLIEB L. D. 1981. Electrophoretic evidence and plant populations. – Prog. Phytochem. 7: 1–46.
- HADLEY G., PEGG G. F. 1989. Host-fungus relationship in orchid mycorrhizal systems. – W: PRITCHARD H.W. (red.), Modern methods of orchid conservation: the role of physiology, ecology and management. Cambridge University Press, Cambridge, s. 57–73.
- HAMRICK J. L., MURAWSKE D. A., LOVELESS M. D. 1991. Correlations between species traits and allozyme diversity: implications for conservation biology. – W: FALK D. A., HOLSINGER K. E. (red.), Genetics and conservation of rare plants. Oxford University Press, New York, s. 75–86.
- HARRIS H., HOPKINSON D. A. 1976. Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics. North-Holland, Amsterdam, 120 ss.
- HEDREN M. 1996. Genetic differentiation, polyploidization and hybridization in northern European *Dactylorhiza* (Orchidaceae): evidence from allozyme markers. – Pl. Syst. Evol. 201(1–4): 31–55.
- HERBICH J. 1994 (mscr.). Stan zachowania flory i roślinności planowanego rezerwatu „Łąki nad Jeziorem Potulskim” w Gołubiu oraz zasady i program jego ochrony. Gdańsk.
- HERBICH J., HERBICHOWA M., SIEMION D. 1995 (mscr.). Stan zachowania flory i zbiorowisk roślinnych Torfowisk Karwęczyńskich (Mechowisk Sulęczyńskich) oraz zasady i program ich ochrony. Dla Wojewódzkiego Konserwatora Przyrody w Gdańsku, Gdańsk.
- HERBICHOWA M., HERBICH J., SIEMION D. 2000. Flora planowanego rezerwatu „Mechowiska Sulęczyńskie” na Pojezierzu Kaszubskim. – Acta Bot. Cassub. 1: 7–21.
- HERWEG O. 1914. Flora der Kreise Neustadt und Putzig in Westpreussen. – Ber. Westpr. Bot.-Zool. Ver. 37: 85–331.
- HEWITT G. 1995. Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. – Biol. J. Linn. Soc. 58(3): 247–276.
- IUCN 2001. IUCN Red List Categories And Criteria: version 3.1. IUCN Species Survival Commission, IUCN, Gland-Cambridge, 30 ss.
- JAKUBOWSKA-GABARA J., KUCHARSKI L. 1999. Ginące i zagrożone gatunki flory naczyniowej zbiorowisk naturalnych i półnaturalnych Polski Środkowej. – Fragn. Flor. Geobot. Ser. Polonica 6: 55–74.
- JELINOWSKI T., SCHWARZ Z., TOKARZ H. 1986. Nowe i rzadsze gatunki we florze Pojezierza Starogardzkiego i północno-wschodniej części Borów Tucholskich. Cz. III. – Bad. Fizjogr. Pol. Zach., Ser. B – Botanika 37: 5–23.
- KLINGGRAEFF H. VON 1881. Versuch einer topographischen Flora der Provinz Westpreussen. – Schrift. Natur. Gesell. Danzig, N.F. 5(1–2): 82–232.
- KONOPELSKA-FILIKS E. 1987 (mscr.). Flora naczyniowa doliny rzeki Gościciny. Praca magisterska wykonana w Katedrze Ekologii Roślin i Ochrony Przyrody Uniwersytetu Gdańskiego, Gdynia.
- KOWALSKA L. 1984 (mscr.). Współczesna flora łąk między Piaśnicą a Jastrzębią Górą jako wynik antropogenicznych zmian szaty roślinnej. Praca magisterska wykonana w Katedrze Ekologii Roślin i Ochrony Przyrody Uniwersytetu Gdańskiego, Gdynia.
- LEDIG F. T. 1996. *Pinus torreyana* at the Torrey Pines State Reserve, California. – W: FALK D. A., MILLAR C. I., OLWELL M. (red.), Restoring diversity, strategies for reintroduction of endangered plants. Island Press, Washington, s. 265–271.

- LENARTOWICZ Z., MACHNIKOWSKI M., ANGIEL M., KRÓL E. 1982 (mscr.). Beka – rezerwat częściowy roślinności solniskowej i ptaków. Instytut Kształtowania Środowiska, Pracownia Geosystemów Nadmorskich, Gdańsk.
- LOVELESS M. D., HAMRICK J. L. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. – *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 15: 65–95.
- MIEŃKO W., BŁAŻUK J., GRECHUTA M., SIEMION D. 1997 (mscr.). Inwentaryzacja i waloryzacja przyrodnicza gminy Karsin. Biuro Dokumentacji i Ochrony Przyrody, Gdańsk.
- MIEŃKO W., BŁAŻUK J., GRECHUTA M., SIEMION D. 1998 (mscr.). Inwentaryzacja i waloryzacja przyrodnicza gminy Luzino. Biuro Dokumentacji i Ochrony Przyrody, Gdańsk.
- MIEŃKO W., BŁAŻUK J., GRECHUTA M., SIEMION D. 1999 (mscr.). Inwentaryzacja i waloryzacja przyrodnicza gminy Lipusz. Biuro Dokumentacji i Ochrony Przyrody, Gdańsk.
- MIEŃKO W., BŁAŻUK J., KNITTER R., SIEMION D. 1998 (mscr.). Inwentaryzacja i waloryzacja przyrodnicza gminy Stara Kiszewa. Biuro Dokumentacji i Ochrony Przyrody, Gdańsk.
- MINASIEWICZ J. 1997. Nowe stanowisko rzadkich gatunków roślin w Rumii (woj. gdańskie). – *Chrońmy Przyr. Ojcz.* 53(1): 101–103.
- MINASIEWICZ J. 2001 (mscr.). Zmienność morfologiczna i genetyczna populacji wybranych gatunków *Dactylorhiza Necker ex Nevski* sekcji *Dactylorhiza (Orchidaceae)* w Polsce. Praca doktorska wykonana w Katedrze Taksonomii Roślin i Ochrony Przyrody Uniwersytetu Gdańskiego, Gdańsk.
- NOWAK A., SPAŁEK K. 2002. Czerwona księga roślin województwa opolskiego. Rośliny naczyniowe wymarłe, zagrożone i rzadkie. Śląskie wydawnictwo ADAN, Opole, 160 ss.
- PARUSEL J. B., WIKA S., BULA R. (red.) 1996. Czerwona lista roślin naczyniowych Górnego Śląska. – Centrum Dziedzictwa Przyrody Górnego Śląska, Raporty, Opinie 1: 8–42.
- PEDERSEN H. A. 1998. Allozyme variation and genetic integrity of *Dactylorhiza incarnata (Orchidaceae)*. – *Nord. J. Bot.* 18(1): 15–21.
- PREUSS H. 1911. Die Vegetationsverhältnisse der westpreussischen Ostseeküste. – *Ber. Westpr. Bot.-Zool. Ver.* 33: 1–119.
- QAMARUZ-ZAMAN F., FAY F. M., PARKER S. J., CHASE W.M. 1998. Molecular technique employed in the assessment of genetic diversity: a review focusing on orchid conservation. – *Lindleyana* 13(4): 259–283.
- RAJCHEL R. 1964. *Orchis incarnata* L. ssp. *ochroleuca* (Wunstei) O. Schwartz w Polsce. – *Fragm. Flor. Geobot.* 10(2): 193–197.
- SĄGIN P. 1987 (mscr.). Zróżnicowanie i rozmieszczenie roślinności wybranych dolin południowo-zachodniej części Pojezierza Kaszubskiego. Praca magisterska wykonana w Katedrze Ekologii Roślin i Ochrony Przyrody Uniwersytetu Gdańskiego, Gdynia.
- SEKCJA BOTANICZNA SKNB UG 1985 (mscr.). Rozmieszczenie prawnie chronionych gatunków roślin w kompleksie leśnym na S od Bożepola Wielkiego. Dla Wojewódzkiego Konserwatora Przyrody w Gdańsku, Gdynia.
- SELANDER R. K., SMITH M.H., YANG S .Y., JOHNSON W. E., GENTRY J. B. 1971. Biochemical polymorphism and systematics in the genus *Peromyscus*. Variation in the old-field mouse (*Peromyscus polionatus*). – *Stud. Genet.* 7103: 49–80.
- SOLTIS D. E., HAUFLE C. H., DARROW D. C., GASTONY G. J. 1983. Starch gel electrophoresis of ferns: a compilation of grinding buffers, gel and electrode buffers and staining schedules. – *Amer. Fern. J.* 73: 9–27.
- StatSoft, Inc. 1996. STATISTICA for Windows. Tulusa. Program komputerowy.
- SWOFFORD D. L., SELANDER R. B. 1989. BIOSYS-1: a computer program for the analysis of the allelic variation in population genetics and biochemical systematic. Release 1.7. Illinois Natural History Survey, Champaign.
- SZLACHETKO D. L. 1987. Storzyczkowate (*Orchidaceae*) we wschodniej części Pobrzeża Kaszubskiego. – *Zesz. Nauk. BGI O, Biol.* 8: 99–133.
- SZLACHETKO D. L., SKAKUJ M. 1996. Storzycyki Polski. Sorus, Poznań, 248 ss.

- TAMM C. O. 1972. Survival and flowering of some perennial herbs. II. The behaviour of some orchids on permanent plots. – *Oikos* 23: 23–28.
- TUKAŁŁO P., MINASIEWICZ J. 2003. Zmienność morfologiczna a problemy klasyfikacji taksonów krytycznych w rodzaju *Dactylorhiza*. – *Genus, Suppl.*: 77–80.
- WEEDEN N. F., WENDEL J. F. 1989. Genetics of plant isozymes. – W: SOLTIS D. E., SOLTIS P. S. (red.), *Isozymes in plant biology*. Dioscorides Press, Portland, s. 46–72.
- WENDEL J. F., WEEDEN N. F. 1989. Visualization and interpretation of plant isozymes. – W: SOLTIS D. E., SOLTIS P. S. (red.), *Isozymes in plant biology*. Dioscorides Press, Portland, s. 5–45.
- WITHNER C. L. 1974. Developments in orchid physiology. – W: WITHNER C. L. (red.), *The orchids: scientific studies*. John Wiley & Sons, New York, s. 129–169.
- ZARZYCKI K. 1986. Lista wymierających i zagrożonych roślin naczyniowych Polski. – W: ZARZYCKI K., WOJEWODA W. (red.), *Lista roślin wymierających i zagrożonych w Polsce*. PWN, Warszawa, s. 11–27.
- ZARZYCKI K., SZELĄG Z. 1992. Czerwona lista roślin naczyniowych zagrożonych w Polsce. – W: ZARZYCKI K., WOJEWODA W., HEINRICH Z. (red.), *Lista roślin zagrożonych w Polsce* PAN, Inst. Bot. im. W. Szafera, Kraków, s. 87–98.
- ŻUKOWSKI W. 1976. Zanikanie storczyków w Polsce niżowej w świetle analizy obecnego rozmieszczenia wybranych gatunków. – *Phytocoenosis* 5(3–4): 215–226.
- ŻUKOWSKI W., JACKOWIAK B. 1995. Lista roślin ginących i zagrożonych na Pomorzu Zachodnim i w Wielkopolsce. – W: ŻUKOWSKI W., JACKOWIAK B. (red.), *Ginące i zagrożone rośliny naczyniowe Pomorza Zachodniego i Wielkopolski*. – *Prace Zakładu Taksonomii Roślin UAM w Poznaniu* 3: 9–96. Bogucki Wyd. Nauk., Poznań

Summary

Dactylorhiza incarnata is an endangered species in Gdańsk area. It reaches category EN case A2, i.e. above 50% decrease of numbers of individuals in the last three generations due to irreversible changes of habitat (compare IUCN 2001). The most important reason for declining its localities is ground drainage connected with land use and urbanization.

Morphological and genetic diversity of *Dactylorhiza incarnata* populations do not constitute the basis for ecotype distinguishing in the studied area. As a source of samples for a potential *ex situ* collection, the populations from Pryśńiewo, Sulęcyno and Wiele should be used.

Allozyme diversity of studied populations is very low which is mainly caused by the decline of numbers of localities and numbers of the individuals in populations.

To protect the populations of *D. incarnata* successfully one should accept establishing the planned bog-reserve 'Mechowiska Sulęczyńskie' as well as broadening of the area of ecological use 'Pryśńiewska Łąka' in the neighbouring area at its NE end, where the localities of *D. incarnata* occur together with another orchid species. It would also be advisable to carry on ecological monitoring of the rest of the localities, especially in Wiele. Development of Maritime Botanical Garden of Gdańsk University affords possibilities for *ex situ* protection of the studied species in the future.